饲粮能氮水平对不同品种猪肉质性状及相关基因表达的影响

刘莹莹[1,2,3]　李凤娜[1,4]　李颖慧[1,3]　印遇龙[1]　孔祥峰[1*]

（1.中国科学院亚热带农业生态研究所，亚热带农业生态过程重点实验室，湖南省畜禽健康养殖工程技术研究中心，农业部中南动物营养与饲料科学观测实验站，长沙 410125；2.湖南省畜牧兽医研究所，长沙 410131；3.中国科学院大学，北京 100049；4.湖南畜禽安全生产协同创新中心，长沙 410128）

摘　要：本试验旨在研究饲粮能氮水平对不同品种猪肉质性状以及肌纤维类型和细胞因子相关基因表达的影响。选取巴马香猪和长白猪共 96 头（48 头/品种），随机分为 4 组，分别为长白猪饲喂 NRC 饲粮组、长白猪饲喂我国地方猪标准（GB）饲粮组、巴马香猪饲喂 NRC 饲粮组、巴马香猪饲喂 GB 饲粮组。试验从 5 周龄开始，至出栏时结束。分别于保育期、生长期和肥育期末，每组选择 8 头体况相近猪只屠宰，采集肌肉样品分析。结果表明：生长阶段显著影响了试验猪背最长肌熟肉率和肌球蛋白重链（*MyHC*）Ⅱ*x*、*MyHC*Ⅱ*b* 及白细胞介素-15（*IL*-15）mRNA 表达水平（P<0.05），且随生长阶段呈增加趋势；与长白猪相比，巴马香猪的背最长肌熟肉率、*MyHC*Ⅰ mRNA 表达水平显著升高（P<0.05），而滴水损失显著降低（P<0.05）；与 NRC 饲粮相比，GB 饲粮显著提高了生长期长白猪和巴马香猪的 pH_{45min}（P<0.05），显著上调了保育期和肥育期猪背最长肌 *MyHC*Ⅰ mRNA 表达水平（P<0.05）；与 GB 饲粮相比，NRC 饲粮显著上调了生长期猪背最长肌 *MyHC*Ⅰ mRNA 表达水平（P<0.05）。由此可见，品种和生长阶段均可显著影响肉质性状及相关基因的表达，饲粮能氮水平则主要通过与生长阶段产生互作效应影响肉质性状及肌纤维类型相关基因的表达。

关键词：肉质性状；肌纤维类型；细胞因子；巴马香猪；饲粮能氮水平

中图分类号：S828

猪肉是猪以自身生物学特性和遗传为基础，以机体的正常营养代谢为平台，通过摄入饲粮养分，在生长发育过程中协调营养素向肌肉组织的沉积而形成的。肌纤维作为构成肌肉的基本单位，不仅决定骨骼肌的生长发育，还影响猪肉的生理生化特性、宰后代谢活动及感官品质。肌肉中肌纤维肥大、肌纤维类型的组成与转化以及肌内脂肪沉积均是影响优良肉质性

收稿日期：2016-08-01

基金项目：国家 973 课题（2012CB124704，2013CB127305）；湖南省自然科学基金项目（S2014J504I）

作者简介：刘莹莹（1982-），女，湖南邵阳人，助理研究员，博士，主要从事肉品质营养调控研究。E-mail： hunaulyy_2006@126.com

*通信作者：孔祥峰，研究员，博士生导师，E-mail： nnkxf@isa.ac.cn

状形成的主要因素[1]。调节肌纤维类型及其转化是改善肉质的重要途径[2]。肌肉由不同类型的肌纤维组成，根据其所含的酶系及其活性和收缩功能，可将肌纤维分为慢速氧化型（Ⅰ型）、快速氧化型（Ⅱa 型）、快速酵解型（Ⅱb 型）和中间型（Ⅱx 型）[3]。Ⅰ型肌纤维细小，脂质、肌红蛋白含量较高，因此肌肉中Ⅰ型肌纤维比例较高，则其肉色、嫩度和风味等较好；而Ⅱb 型肌纤维粗大，肌红蛋白、脂质含量较低，糖原含量较高，含Ⅱb 型肌纤维较多的肌肉纹理粗糙、肉色浅淡，嫩度、风味欠佳，并且在应激状况下容易形成白肌肉（PSE 肉）。肌纤维类型不但受其固有发育规律的调节，也会受神经内分泌、营养状况和应激等因素的影响。肌纤维类型转化伴随着动物的整个发育期。出生前肌球蛋白重链（myosin heavy chain,MyHC）异构体一般以胚胎期→胎儿期→初生期→成熟期（慢Ⅰ型和快Ⅱ型）顺序表达，而成熟期的 MyHC 异构体则按Ⅰ↔Ⅱa↔Ⅱx↔Ⅱb 顺序相互转化[4]。巴马香猪是我国著名的地方品种猪，具有皮薄骨细、肉质鲜美、性成熟早等特点，但其生长速度慢、瘦肉率低；而长白猪是优良的外来品种，生长速度快、瘦肉率高，但肉质较差[5]。因此，上述 2 品种猪是比较研究猪生产性能和肉品质差异的理想模型。笔者前期研究表明，巴马香猪的肌内脂肪含量及脂肪合成相关基因表达水平均高于长白猪，且受饲粮营养水平的调控[6]。因此，本研究通过探讨饲粮能氮水平对不同品种猪的肉质性状以及肌纤维类型和细胞因子相关基因表达的影响，旨在为猪肉品质调控提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验分别选取 5 周龄长白猪和巴马香猪共 96 头（48 头/品种，均为断奶阉公猪），单栏饲养，随机分为 4 组，分别为长白猪饲喂中国猪饲养标准（GB）饲粮组、长白猪饲喂 NRC 饲粮组、巴马香猪饲喂 GB 饲粮组和巴马香猪饲喂 NRC 饲粮组。参照 NRC（2012）猪营养需要[7]和中国《猪饲养标准》（2004）[8]配制本试验饲粮，试验饲粮组成及营养水平见表 1。预试期 7 d，对试验猪进行打耳标、驱虫和防疫。试验期间自由采食和饮水，每天记录采食量，观察猪只精神状况和健康情况。试验至达到出栏体重时结束。

表 1　试验饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis)　　%

项目 Items	NRC 饲粮 NRC diets			中国猪饲养标准饲粮 GB diets		
	7~20 kg	21~50 kg	51~90 kg	3~15 kg	16~35 kg	36~50 kg
原料 Ingredients						
玉米 Corn	62.80	66.00	69.50	63.00	60.00	66.00

豆粕 Soybean meal	26.00	28.00	23.00	25.00	26.50	21.00
鱼粉 Fish meal	7.00	2.00		3.00		
麦麸 Wheat bran			3.00	6.34	10.75	10.50
豆油 Soybean oil	1.95	1.50	2.10			
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.45	0.70	0.65	0.80	0.80	0.50
碳酸钙 $CaCO_3$	0.50	0.50	0.45	0.56	0.65	0.70
食盐 NaCl	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
预混料 Premix[1)]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]						
消化能 DE/(MJ/kg)	14.22	14.21	14.22	13.46	13.40	13.40
粗蛋白质 CP	20.06	18.01	15.11	18.03	16.05	13.46
钙 Ca	0.75	0.62	0.50	0.69	0.62	0.56
总磷 TP	0.61	0.52	0.45	0.59	0.55	0.47
有效磷 AP	0.39	0.28	0.21	0.21	0.13	0.12
精氨酸 Arg	0.97	0.93	0.75	0.87	0.88	0.69
组氨酸 His	0.50	0.48	0.39	0.47	0.45	0.37
异亮氨酸 Ile	0.57	0.55	0.45	0.52	0.52	0.40
亮氨酸 Leu	1.50	1.51	1.28	1.46	1.37	1.21
赖氨酸 Lys	0.86	0.80	0.61	0.76	0.79	0.55
蛋氨酸 Met	0.25	0.18	0.21	0.23	0.17	0.13
苯丙氨酸 Phe	0.69	0.75	0.58	0.69	0.70	0.55
苏氨酸 Thr	0.61	0.56	0.44	0.54	0.53	0.41
缬氨酸 Val	0.82	0.72	0.65	0.77	0.68	0.57
丙氨酸 Ala	1.13	0.92	0.88	1.06	0.87	0.78
天冬氨酸 Asp[3)]	1.64	1.62	1.30	1.54	1.54	1.21
半胱氨酸 Cys	0.34	0.25	0.32	0.34	0.24	0.27
谷氨酸 Glu[4)]	3.71	3.80	3.11	3.71	3.59	2.99
甘氨酸 Gly	0.77	0.68	0.53	0.69	0.64	0.49
脯胺酸 Pro	1.88	1.82	1.49	1.79	1.70	1.40
丝氨酸 Ser	0.59	0.64	0.46	0.57	0.59	0.46
酪氨酸 Tyr	0.53	0.52	0.45	0.47	0.48	0.41
总氨基酸 Total AA	17.32	16.72	13.91	16.46	15.73	12.87

[1)]预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：Cu (as copper sulfate) 10 mg，Fe (as ferrous sulfate) 100 mg，Se (as sodium selenite) 0.30 mg，Zn (as zinc oxide) 100 mg， Mn (as manganese sulfate) 10 mg， VD_3 9.65 μg， VA 925.8 μg， VE 15.4 mg， VK_3 2.3 mg， VB_2 3.9 mg， VB_{12} 0.016 mg， *D*-泛酸钙 *D*-calcium pantothenate 15.4 mg， 烟酸

nicotinic acid 23 mg，胆碱 choline 80 mg。

2)粗蛋白质和氨基酸为实测值，其他为计算值。CP and amino acids were measured values, while the others were calculated values.

3)包括天冬氨酸和天冬酰胺。Including aspartate and asparagine.

4)包括谷氨酸和谷氨酰胺。Including glutamate and glutamine.

1.2　样品采集

根据 2 品种猪不同的生长发育规律[9-10]，分别于 3 个不同的体重阶段末（长白猪：20、50 和 90 kg，巴马香猪：15、35 和 50 kg），每个组选择 8 头体重相近的猪只，按国家标准《生猪屠宰操作规程》屠宰取样。采集右半胴体第 10~11 肋骨处背最长肌样品现场测定肉品质；采集右半胴体背最长肌和股二头肌各 2 g，液氮速冻后-80 ℃保存，用于分子生物学检测。

1.3　肉质性状测定

取第 10~11 肋骨处的背最长肌样品，采用专用 pH 计（pH Star,Germany）测定宰后 45~60 min 内的 pH_{45min} 和宰后 24 h 的 pH_{24h}；采用 CR410 型色差计（Konica Minolta Sensing,Inc.,Tokyo,Japan）测定宰后 2 h 内的肉色[亮度（L^*）、红度（a^*）、黄度（b^*）]；宰后 2~3 h，顺肌纤维方向切取 2 cm×5 cm×3 cm 的肉样，采用悬挂法测定滴水损失；宰后 2 h 内取肉样约 100 g，采用蒸煮法测定熟肉率[11]。

1.4　肌纤维组成相关基因及肌细胞因子基因表达测定

参照文献[12]提取肌肉总 RNA，采用琼脂糖凝胶电泳法检测 RNA 完整性，采用 Nanodrop 2000 分光光度计（Nano-drop Technologies,Wilmington,DE）测定总 RNA 浓度及其在吸光度（OD）260 和 280 nm 处的吸光值（其比值为 1.9~2.0）。所有样品的 RNA 浓度用焦碳酸二乙酯（DEPC）处理水调至 1 000 ng/μL 左右后，按照反转录试剂盒（TaKaRa biotechnology Co.,Ltd,Dalian）说明书将 RNA 反转录为 cDNA。

以合成的 cDNA 为模板采用实时荧光定量 PCR 方法测定相关基因（表 2）的表达水平。引物使用 Primer premier 5.0 软件设计，由上海生物工程技术有限公司合成。PCR 反应体系为 25 μL，包括 5 μL cDNA 模板，上、下游引物各 0.5 μL。PCR 反应条件为：95 ℃预热 10 s；然后 95 ℃ 10 s，54.7 ℃（根据具体引物设定）30 s，72 ℃ 15 s，45 个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）作为内参，对获得的信号、数据进行处理，根据公式 $2^{-\Delta Ct}=2^{-(Ct_{目的基因}-Ct_{GAPDH})}$计算目的基因的相对表达水平，其中 ΔCt 为目的基因 Ct 值与 GAPDH Ct 值之差；$Ct_{目的基因}$为目的基因的 Ct 值；Ct_{GAPDH} 为 GAPDH 的 Ct 值。

表 2　RT-PCR 引物序列

Table 2 Primers used for RT-PCR

基因名称 Gene name	登录号 Accession No.	序列 Sequence	大小 Size/bp
MyHC Ⅰ	AB053226	F: 5’-AAGGGCTTGAACGAGGAGTAGA-3’	114
		R: 5’-TTATTCTGCTTCCTCCAAAGGG-3’	
MyHC Ⅱa	AB025260	F: 5’-GCTGAGCGAGCTGAAATCC-3’	136
		R: 5’-ACTGAGACACCAGAGCTTCT-3’	
MyHC Ⅱx	U90719	F: 5'-AGCTTCAAGTTCTGCCCCACT-3'	76
		R: 5'-GGCTGCGGGTTATTGATGG-3'	
MyHC Ⅱb	U90720	F: 5'-CACTTTAAGTAGTTGTCTGCCTTGAG-3'	80
		R: 5'-GGCAGCAGGGCACTAGATGT-3'	
Chemerin	HQ_538820	F: 5'-AGTTCCACAAGCACCCACCC-3'	148
		R: 5'-GCTTTCTTCCAGTCCCTCTT-3'	
IL-15	NM_214390	F: 5'-GCATCCAGTGCTACTTGTGT-3'	118
		R: 5'-TGCCAGGTTGCTTCTGTTTT-3'	
GAPDH	NM_001206359	S: 5'-AAGGAGTAAGAGCCCCTGGA-3'	140
		A: 5'-TCTGGGATGGAAACTGGAA-3'	

MyHC：肌球蛋白重链；*Chemerin*：趋化素；*IL*-15：白细胞介素-15；*GAPDH*：甘油醛-3-磷酸脱氢酶。下表同。

MyHC: myosin heavy chain; *Chemerin*: chemerin; *IL*-15: interleukin-15; *GAPDH*: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. The same as below.

1.5 数据统计分析

以品种、饲粮和生长阶段为主效应，用 SAS 9.1（SAS Institute Inc.,Cary,NC）的 GLM 程序对试验数据进行多因子方差分析，均值进行 Tukey’s 多重比较。结果以 Mean 和 SEM 表示，P<0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 肉质性状

由表 3 可知，生长阶段、品种和饲粮均可影响肉品质。长白猪和巴马香猪的 pH_{45min}、pH_{24h} 和滴水损失随生长阶段而显著降低（P<0.05），肌肉肉色 b^*值和熟肉率随生长阶段而

显著增加（$P<0.05$）。长白猪各阶段背最长肌的 pH 和滴水损失均显著高于巴马香猪（$P<0.05$），肌肉肉色 a^*值和熟肉率均显著低于巴马香猪（$P<0.05$）。与 NRC 饲粮相比，GB 饲粮可显著提高生长期长白猪和巴马香猪的 pH_{45min}（$P<0.05$）。

表 3　饲粮能氮水平对不同品种猪肉质性状的影响

Table 3　Effects of dietary energy and nitrogen levels on meat quality in different strains of pigs

生长阶段 Growth stages	品种 Strains	饲粮 Diets	始重 Initial weight/kg	末重 Final weight/kg	pH		肉色 Color			滴水损失 Drip loss/%	熟肉率 Cooking yield percentage/%
					pH_{45min}	pH_{24h}	L^*	a^*	b^*		
保育期 Nursery stage	长白猪 Landrace pig	GB	7.71	22.95	6.73	5.76	48.26	14.83	5.18	2.93	48.65
		NRC	7.64	23.06	6.40	5.65	48.78	13.94	4.98	2.45	48.52
	巴马香猪 Bama mini-pig	GB	3.37	17.29	5.97	5.65	46.54	15.41	5.17	2.54	48.65
		NRC	3.38	17.91	6.18	5.61	46.27	14.90	5.35	2.22	50.20
生长期 Growing stage	长白猪 Landrace pig	GB	24.74	61.82	6.60	5.59	46.73	12.97	5.70	2.73	51.72
		NRC	25.15	56.37	6.39	5.61	46.35	13.34	5.22	2.67	51.65
	巴马香猪 Bama mini-pig	GB	20.55	38.82	6.41	5.56	47.96	13.95	5.93	1.93	54.92
		NRC	19.66	38.95	6.10	5.41	47.30	14.34	5.94	1.30	54.40
肥育期 Finishing stage	长白猪 Landrace pig	GB	65.03	91.03	6.40	5.43	47.46	12.90	5.84	2.01	54.37
		NRC	62.83	92.03	6.23	5.50	47.48	13.81	5.68	1.53	53.22
	巴马香猪 Bama mini-pig	GB	44.08	49.84	6.08	5.30	48.55	14.31	6.12	1.17	55.49
		NRC	45.82	49.19	6.08	5.45	46.11	15.30	5.70	1.63	55.78
SEM			0.52	1.36	0.07	0.04	0.83	0.34	0.31	0.32	1.51
P 值 P-value	生长阶段 Growth stage		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.81	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
	品种 Strain		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.46	<0.01	0.17	<0.01	<0.05
	生长阶段×品种 Growth stage×strain		<0.01	<0.01	0.03	0.74	0.03	0.43	0.74	0.21	0.63
	饲粮 Diet		0.65	0.69	<0.01	0.65	0.31	0.33	0.36	0.21	1.00
	生长阶段×饲粮 Growth stage×diet		0.94	0.15	0.15	<0.01	0.57	<0.01	0.82	0.69	0.86

	品种×饲粮 Strain×diet	0.21	0.25	0.03	0.91	0.26	0.70	0.60	0.65	0.64

2.2　*MyHC* 亚型的基因表达

由表 4 可知，生长阶段影响了试验猪肌纤维亚型的基因表达。随着猪的生长，骨骼肌中 *MyHC* Ⅱ*x* 和 *MyHC* Ⅱ*b* mRNA 表达水平上调，肥育期 *MyHC* Ⅱ*x* 和 *MyHC* Ⅱ*b* mRNA 表达水平高于保育和生长期。巴马香猪背最长肌中的 *MyHC* Ⅰ 和 *MyHC* Ⅱ*x* 及股二头肌中的 *MyHC* Ⅰ 和 *MyHC* Ⅱ*a* mRNA 表达水平显著高于长白猪（$P<0.05$），而股二头肌中的 *MyHC* Ⅱ*b* mRNA 表达水平显著低于长白猪（$P<0.05$）。品种和生长阶段对背最长肌和股二头肌中的 *MyHC* Ⅱ*a* 表达水平存在显著互作效应（$P<0.05$）。与 NRC 饲粮相比，GB 饲粮可显著上调保育期和肥育期背最长肌中 *MyHC* Ⅰ mRNA 表达水平（$P<0.05$），而显著下调生长期 *MyHC* Ⅰ mRNA 表达水平（$P<0.05$）。

表 4　饲粮能氮水平对不同品种猪肌纤维类型 mRNA 表达水平的影响

Table 4　Effects of dietary energy and nitrogen levels on mRNA expression level of muscle fiber types in different strains of pigs

生长阶段	品种	饲粮	背最长肌 *Longissimus dorsi* muscle				股二头肌 *Biceps femoris* muscle			
Growth stages	Strains	Diets	*MyHC* Ⅰ	*MyHC* Ⅱ*a*	*MyHC* Ⅱ*b*	*MyHC* Ⅱ*x*	*MyHC* Ⅰ	*MyHC* Ⅱ*a*	*MyHC* Ⅱ*b*	*MyHC* Ⅱ*x*
	长白猪	GB	2.30	1.56	1.16	1.39	1.07	1.49	1.86	1.37
保育期	Landrace pig	NRC	0.73	0.59	0.55	0.66	1.29	2.70	1.85	0.95
Nursery stage	巴马香猪	GB	3.07	0.98	0.64	1.34	1.47	3.30	1.02	0.97
	Bama mini-pig	NRC	1.71	1.40	1.45	2.21	1.12	3.08	1.09	1.28
	长白猪	GB	0.60	0.51	0.73	0.33	1.42	1.44	2.27	1.35
生长期	Landrace pig	NRC	0.92	1.71	1.51	0.87	2.89	0.22	1.03	0.94
Growing stage	巴马香猪	GB	0.77	1.34	1.07	1.37	3.05	0.34	0.70	0.72
	Bama mini-pig	NRC	1.91	2.30	0.90	1.24	2.49	0.85	0.72	1.07
	长白猪	GB	1.23	1.97	2.59	1.51	1.17	0.37	1.33	0.81
肥育期	Landrace pig	NRC	0.94	1.94	1.82	1.11	0.48	0.23	3.75	1.66
Finishing stage	巴马香猪	GB	2.86	1.92	1.83	2.12	0.94	0.20	0.98	1.41
	Bama mini-pig	NRC	2.13	0.98	1.74	1.79	1.64	1.42	0.98	1.72
SEM			0.28	0.28	0.19	0.21	0.25	0.30	0.22	0.21
P 值	生长阶段 Growth stage		<0.01	0.04	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.07

P-value	品种 Strain	<0.01	0.56	0.33	<0.01	0.01	0.02	<0.01	0.92
	生长阶段×品种 Growth stage×strain	0.21	0.04	0.13	0.95	0.39	0.01	0.07	0.23
	饲粮 Diet	0.03	0.55	0.95	0.83	0.41	0.22	0.14	0.22
	生长阶段×饲粮 Growth stage×diet	<0.01	<0.01	0.07	0.25	0.34	0.10	<0.01	0.10
	品种×饲粮 Strain×diet	0.59	0.83	0.13	0.23	0.20	0.14	0.20	0.24

2.3 肌肉组织细胞因子基因表达

由表 5 可知，随着猪的生长，背最长肌中白细胞介素-15（*IL*-15）mRNA 表达水平逐渐上调。股二头肌中 *IL*-15 mRNA 表达水平存在品种和生长阶段的互作效应（*P*<0.05），即长白猪的 mRNA 表达水平随生长阶段而上调，而巴马香猪的先下调后上调。巴马香猪股二头肌中趋化素（*Chemerin*）mRNA 表达水平显著高于长白猪（*P*<0.05）。与 GB 饲粮相比，NRC 饲粮显著上调肥育期股二头肌 *Chemerin* mRNA 表达水平（*P*<0.05）。

表 5　饲粮能氮水平对不同品种猪骨骼肌细胞因子 mRNA 表达水平的影响

Table 5　Effects of dietary energy and nitrogen levels on mRNA expression level of cytokines in skeletal muscles of different strains of pigs

生长阶段 Growth stages	品种 Strains	饲粮 Diets	背最长肌 *Longissimus dorsi* muscle		股二头肌 *Biceps femoris* muscle	
			Chemerin	*IL*-15	*Chemerin*	*IL*-15
保育期 Nursery stage	长白猪 Landrace pig	GB	0.99	1.07	0.46	0.39
		NRC	0.79	0.65	0.32	0.31
	巴马香猪 Bama mini-pig	GB	1.81	1.11	3.38	2.64
		NRC	1.08	0.70	3.15	2.03
生长期 Growing stage	长白猪 Landrace pig	GB	1.10	0.87	0.53	0.50
		NRC	2.27	2.11	0.47	1.66
	巴马香猪 Bama mini-pig	GB	0.97	1.34	0.59	0.62
		NRC	0.92	1.30	0.91	0.98
肥育期 Finishing stage	长白猪 Landrace pig	GB	1.48	1.53	1.14	2.69
		NRC	1.81	2.31	1.89	3.17
	巴马香猪 Bama mini-pig	GB	0.73	2.31	1.32	2.65
		NRC	1.49	2.93	2.18	4.46
SEM			0.37	0.34	0.36	0.56

	生长阶段 Growth stage	0.75	<0.01	0.11	<0.01
	品种 Strain	0.31	0.38	<0.01	0.04
P 值	生长阶段×品种 Growth stage×strain	0.04	0.29	<0.01	<0.05
P-value	饲粮 Diet	0.37	0.19	0.03	0.17
	生长阶段×饲粮 Growth stage×diet	0.11	0.06	0.09	0.22
	品种×饲粮 Strain×diet	0.36	0.28	0.38	1.00

3 讨 论

评价肉品质的主要指标包括 pH、肉色、滴水损失和熟肉率等[13]。本试验中，在相同生长阶段，巴马香猪的滴水损失低于长白猪，而肌肉肉色 a^*值和熟肉率高于长白猪，这与前人报道[1,14]类似，即我国地方品种猪肉质性状优于外来品种猪。宰后机体的生理代谢终止，肌纤维中贮存的糖原发生无氧酵解产生乳酸，导致 pH 下降，进一步影响肉色、系水力、可溶性蛋白质浓度和货架期长短等，因而 pH 是评定肉质的一项重要指标。本试验中，GB 饲粮可提高生长猪背最长肌 pH_{45min}，提示其有利于肉品质的改善。

由于不同类型的肌纤维特异性地表达各自特殊类型的 *MyHC*，而不同的 *MyHC* 均有其相应的基因编码，因此通过检测 *MyHC* 基因的表达水平，可以对该肌肉进行肌纤维分型。肌纤维的类型在生长过程中不断发生转化，并受营养和非营养等因素的影响。大量研究表明，肌纤维类型是决定肉品质的一个重要因素[15]，*MyHC*Ⅰ、*MyHC*Ⅱ*a* 和 *MyHC*Ⅱ*x* mRNA 的表达水平量与肌肉颜色、pH、大理石纹和肌内脂肪含量呈正相关；而 *MyHC*Ⅱ*b* mRNA 的表达水平则与肉质性状呈负相关[16]。本试验中，试验猪的背最长肌和股二头肌中的 *MyHC*Ⅱ*b* 和 *MyHC*Ⅱ*x* mRNA 表达水平随着生长而上调，这不利于优良肉品质的形成[16]。Wu 等[17]研究发现，MyHCⅡb 和 MyHCⅡx 型肌纤维比例随生长而增加，且与滴水损失呈显著正相关，与 pH 的下降呈极显著正相关。本试验表明，不同品种猪之间肌纤维类型组成比例差异明显，巴马香猪骨骼肌中 MyHCⅠ和 MyHCⅡa 型肌纤维较多，即氧化型肌纤维较长白猪多，这可能是巴马香猪的肌肉肉色 a^*值较高的一个关键原因；而长白猪骨骼肌中Ⅱb 型肌纤维较多，提示巴马香猪的肉品质优于长白猪。杨晓静等[18]也有类似报道，即大白猪和二花脸猪背最长肌肌纤维类型的差异主要表现在 90 日龄以后，二花脸猪背最长肌较高比例的 MyHCⅠ型和 MyHCⅡa 型肌纤维与其优良的肉质相关。本试验还发现，GB 饲粮可上调保育期和肥育期的 *MyHC*Ⅰ mRNA 表达水平，而 NRC 饲粮则上调生长期 *MyHC*Ⅰ mRNA 表达水平，说明在代谢旺盛的生长期高营养水平饲粮有利于优良肉品质的形成。

骨骼肌分泌的 IL-15 能调控多种细胞的增殖与分化，并以内分泌和旁分泌的方式调节肌肉和脂肪组织代谢[19]。Quinn[20]研究发现，IL-15 能刺激体外培养的已分化的肌细胞收缩蛋白的表达，从而促进肌纤维在体内的生长；IL-15 还能刺激小鼠骨骼肌成肌细胞的分化，增加人骨骼肌肌球蛋白的表达。Li 等[21]采用共培养技术，证实了 IL-15 参与调控猪肌肉与脂肪组织的“对话”。IL-15 还可抑制骨骼肌蛋白质的降解，通过直接作用于脂肪细胞来降低动物体内的脂肪沉积[22]。本试验中，骨骼肌中的 *IL*-15 mRNA 表达水平随生长呈上调趋势，提示肌纤维分化和肌肉生长随生长而增强。脂肪细胞分泌的脂肪细胞因子 *Chemerin* 可通过自分泌途径作用于自身受体趋化因子受体-1(CMKLRl)，促进脂肪细胞分化及葡萄糖转运，从而影响糖代谢和脂肪代谢[23]。研究表明，*Chemerin* 基因与动物的眼肌面积、系水力和大理石花纹评分等肉质性状密切相关[24]，且对肌内脂肪沉积发挥重要作用[25]。本试验中，巴马香猪股二头肌中 *Chemerin* mRNA 表达水平显著高于长白猪，提示巴马香猪比长白猪具有更强的脂肪代谢和沉积能力，从而形成更多的肌内脂肪和更好的肉品质。

4 结 论

品种和生长阶段均可显著影响猪的肉质性状及相关基因的表达，饲粮能氮水平主要与生长阶段对肉质性状产生互作效应。巴马香猪具有更多的氧化型肌纤维，肉质较好；GB 饲粮可上调肥育期背最长肌中 *MyHC* Ⅰ mRNA 表达水平，从而改善猪肉品质；生长期提高饲粮能氮水平有利于优良肉品质的形成。

参考文献：

[1] LEFAUCHEUR L,MILAN D,ECOLAN P,et al.Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in Large White and *Meishan* pigs[J].Journal of Animal Science,2004,82(7):1931–1941.

[2] LI Y J,LI J L,ZHANG L,et al.Effects of dietary energy sources on post mortem glycolysis,meat quality and muscle fibre type transformation of finishing pigs[J].PLoS One,2015,10(6):e0131958.

[3] KATSUMATA M,YAMAGUCHI T,ISHIDA A,et al.Changes in muscle fiber type and expression of mRNA of myosin heavy chain isoforms in porcine muscle during pre- and postnatal development[J].Animal Science Journal,2016,doi:10.1111/asj.12641.

[4] 李伯江,李平华,吴望军,等.骨骼肌肌纤维形成机制的研究进展[J].中国农业科学,2014,47(6):1200–1207.

[5] LIU Y Y,KONG X F,JIANG G L,et al.Effects of dietary protein/energy ratio on growth

performance,carcass trait,meat quality,and plasma metabolites in pigs of different genotypes[J].Journal of Animal Science and Biotechnology,2015,6:36.

[6] LIU Y Y,LI F N,HE L Y,et al.Dietary protein intake affects expression of genes for lipid metabolism in porcine skeletal muscle in a genotype-dependent manner[J].British Journal of Nutrition,2015,113(7):1069–1077.

[7] National Research Council (NRC).Nutrient requirements of swine[M].11th Rev. ed.Washington,DC,USA:National Academy Press,2012.

[8] 中华人民共和国农业部.NY/T 65-2004 猪饲养标准[S].北京:中国标准出版社,2004.

[9] 莫玉萍,钟舒红,唐敏桃,等.广西巴马香猪的种质特性及开发利用[J].猪业科学,2011(10):116–118.

[10] 肖炜,云鹏,崔凤瑞,等.长白猪生长肥育期生长规律的研究[J].畜牧与兽医,2007,39(7):29–31.

[11] TAN B,YIN Y L,LIU Z Q,et al.Dietary *L*-arginine supplementation increases muscle gain and reduces body fat mass in growing-finishing pigs[J].Amino Acids,2009,37(1):169–175.

[12] LIU Y Y,KONG X F,LI F N,et al.Co-dependence of genotype and dietary protein intake to affect expression on amino acid/peptide transporters in porcine skeletal muscle[J].Amino Acids,2016,48(1):75–90.

[13] ROSENVOLD K,ANDERSEN H J.Factors of significance,for pork quality-a review[J].Meat Science,2003,64(3):219–237.

[14] GIL M,DELDAY M I,GISPERT M,et al.Relationships between biochemical characteristics and meat quality of *Longissimus thoracis* and *Semimembranosus* muscles in five porcine lines[J].Meat Science,2008,80(3):927–933.

[15] CHOI Y M,JUNG K C,CHOE J H,et al.Effects of muscle cortisol concentration on muscle fiber characteristics,pork quality,and sensory quality of cooked pork[J].Meat Science,2012,91(4):490–498.

[16] CHANG K C,DA COSTA N,BLACKLEY R,et al.Relationships of myosin heavy chain fibre types to meat quality traits in traditional and modern pigs[J].Meat Science,2003,64(1):93–103.

[17] WU F,ZUO J J,YU Q P,et al.Effect of skeletal muscle fibers on porcine meat quality at different stages of growth[J].Genetics and Molecular Research,2015,14(3):7873–7882.

[18] 杨晓静,陈杰,胥清富,等.二花脸猪和大白猪背最长肌中肌肉生长抑制素和生肌调节因子基因的表达及其性别特点[J].南京农业大学学报,2006,29(3):64–68.

[19] 李颖慧,李凤娜,林彬彬,等.IL-15 参与调控肌肉与脂肪组织代谢的新进展[J].细胞与分子免疫学杂志,2014,30(11):1217–1220,1227.

[20] QUINN L S.Interleukin-15:a muscle-derived cytokine regulating fat-to-lean body composition[J].Journal of Animal Science,2008,86(14S):E75–E83.

[21] LI Y H,LI F N,LIN B B,et al.Myokine IL-15 regulates the crosstalk of co-cultured porcine skeletal muscle satellite cells and preadipocytes[J].Molecular Biology Reports,2014,41(11):7543–7553.

[22] 曹璐,吴德,方正锋,等.白介素 15 对骨骼肌和脂肪组织的调节作用[J].动物营养学报,2010,22(2):246–250.

[23] YANG H S,LI F N,KONG X F,et al.Molecular cloning,tissue distribution and ontogenetic expression of Xiang pig *Chemerin* and its involvement in regulating energy metabolism through Akt and ERK1/2 signaling pathways[J].Molecular Biology Reports,2012,39(2):1887–1894.

[24] 宋付标,昝林森,王洪程,等.秦川牛 *Chemerin* 基因第 2 和第 6 外显子的 SNPs 检测及其与肉质性状的相关性[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2011,39(3):1–7.

[25] 林亚秋,徐亚欧,张润锋,等.藏鸡 *Chemerin* 和 *ChemR*23 基因时序表达及其与肌内脂肪含量的相关性研究[J].畜牧兽医学报,2015,46(8):1290–1299.

Effects of Dietary Energy and Nitrogen Levels on Meat Traits and Its Related Gene Expression in Different Strains of Pigs

LIU Yingying[1,2,3] LI Fengna[1,4] LI Yinghui[1,3] YIN Yulong[1] KONG Xiangfeng[1*]

（1. *Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Hunan Provincial Engineering Research Center of Healthy Livestock, Scientific Observing and Experimental Station of Animal Nutrition and Feed Science in South-Central, Ministry of Agriculture, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha* 410125, *China*; 2. *Hunan Institute of Animal and Veterinary Sciences, Changsha* 410131, *China*; 3. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China;* 4. *Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha* 410128, *China*）

Abstract: This study was conducted to investigate the effects of dietary energy and nitrogen levels on meat traits, muscle fiber type and cytokine related gene expression of pigs. Forty-eight pure-bred Bama mini-pigs and forty-eight Landrace pigs were selected and randomly allocated to four groups: Landrace pigs were fed NRC diet, Landrace pigs were fed Chinese feeding standard of swine (GB) diet, Bama mini-pigs were fed NRC diet and Bama mini-pigs were fed GB diet. The animals were fed from 5 weeks of age to their market weights. At the end of each stage (nursery, growing and finishing stages), eight pigs with similar body condition from each group were slaughted, and analysis the muscle samples. The results showed that the growth stages significantly affect the cooking yield percentage and mRNA expression levels of myosin heavy chain （*MyHC*） Ⅱx, *MyHC* Ⅱ*b* and interleukin-15 (*IL*-15) of *longissimus dorsi* muscle (LDM) (P<0.05), and it shows a increasing trend with growth stage. The cooking yield percentage, mRNA expression levels of *MyHC*Ⅰ of LDM of Bama mini-pigs were significantly higher than those of Landrace pigs (P<0.05), while the drip loss of LDM was significantly lower (P<0.05). Compared with the NRC diet, the GB diet significantly increased the pH_{45min} of LDM during growing stage (P<0.05), and significantly up-regulated mRNA expression level of *MyHC*Ⅰ of LDM at nursery and finishing stages (P<0.05); compared with the GB diet, the NRC diet significantly up-regulated mRNA expression level of *MyHC*Ⅰ of LDM at growing stage (P<0.05). Collectively, these findings suggest that strain and growth stage have significant effects

*Corresponding author, professor, E-mail: nnkxf@isa.ac.cn （责任编辑 武海龙）

on meat traits and its related gene expression levels of pigs. Dietary energy and nitrogen levels mainly through interacted with growth stage, affect meat quality and gene expression of muscle fiber type.

Key words: meat traits; muscle fiber type; cytokine; Bama mini-pigs; dietary energy and nitrogen levels